

(19) 日本国特許庁 (J P) 再公表特許 (A 1)

(11) 国際公開番号

第3部門第2区分

WO 95/11255

発行日 平成8年(1996)3月26日

(43) 国際公開日 平成7年(1995)4月27日

(51) Int.Cl.⁶ 識別記号 庁内整理番号

F I

C 0 7 K 7/06

14/155

A 6 1 K 38/08

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 58 頁)

出願番号 特願平7-511605
(21) 国際出願番号 PCT/J P 94/01756
(22) 国際出願日 平成6年(1994)10月19日
(31) 優先権主張番号 特願平5-261302
(32) 優先日 平5(1993)10月19日
(33) 優先権主張国 日本(J P)
(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, CA, CN, J P, K R, US

(71) 出願人 味の素株式会社
東京都中央区京橋1丁目15番1号
(72) 発明者 滝口 雅文
東京都港区白金台4-6-1 東京大学医
科学研究所内
(72) 発明者 三輪 清志
神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社中央研究所内
(74) 代理人 弁理士 中村 稔

(54) 【発明の名称】 HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチド及びペプチドを含む抗AIDS予防・治療剤

(57) 【要約】

HIVの全たんぱく質の断片であって、該断片が8個~11個のアミノ酸の連続する配列を含むペプチドであり、HLA結合モチーフに相当し、実際にHLAに結合し、かつHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうるペプチドを開示する。このペプチドは、抗AIDS予防・治療剤として有効である。

【特許請求の範囲】

1. HIVの全たんぱく質の断片であって、該断片が8個～11個のアミノ酸の連続する配列を含むペプチドであり、HLA結合モチーフに相当し、実際にHLAに結合し、かつHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうるペプチド。
2. 該ペプチドが9個～11個のアミノ酸の連続する配列を有する請求項1記載のペプチド。
3. 該ペプチドが、配列番号1～63のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである請求項1記載のペプチド。
4. HLA結合モチーフが、8個～11個のアミノ酸配列であって、2番目がPro、C末端がTyr、Leu、Ile、Met、Phe及びAlaからなる群から選ばれるアミノ酸である請求項1記載のペプチド。
5. 該ペプチドが、配列番号1～24のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである請求項4記載のペプチド。
6. 該ペプチドが、配列番号1～13のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである請求項4記載のペプチド。
7. HLA結合モチーフが、8個～11個のアミノ酸配列であって、2番目がPro、Ala及びGlyからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がIle、Leu、Val、Phe及びMetからなる群から選ばれるアミノ酸である請求項1記載のペプチド。
8. 該ペプチドが、配列番号25～46のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである請求項7記載のペプチド。
9. HLA結合モチーフが、8個～11個のアミノ酸配列であって、2番目がLeu、Val、Tyr及びPheからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がArgである請求項1記載のペプチド。
10. 該ペプチドが、配列番号47～63のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである請求項9記載のペプチド。
11. 請求項1記載のペプチドをコードするDNA。
12. 請求項1記載のペプチド及び医薬的に許容される担体及び/又は希釈剤を含む抗AIDS予防・治療剤。

【発明の詳細な説明】

発明の名称

HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチド及び該ペプチドを含む抗AIDS予防・治療剤

発明の背景

本発明は、ヒト免疫不全ウイルス(Human Immunodeficiency Virus、以下「HIV」と略称する)タンパクの一部領域のアミノ酸配列をもち、HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチド及び該ペプチドを含む抗AIDS予防・治療剤に関する。

後天性免疫不全症候群(Acquired Immunodeficiency Disease Syndrome、以下「AIDS」と略称する)は、HIVの感染によって主たる病気であることはよく知られている。この疾患を治療する薬剤の研究開発は活発に行われており、アジドチミジン(以下「AZT」と略称する)、ジデオキシキノシン(以下「DDI」と略称する)などの薬剤が実際に用いられるようになったが、効果や副作用などの問題点があり、HIVの感染によって生じる病気を完全に治療することができる薬剤は未だに見出されておらず、その見通しも立っていない。一方HIV感染予防とAIDS発症の抑制手段としてHIVに対する免疫抵抗力を増強させるワクチンもこの病気の急速な世界的広がりを抑制できる切り札として期待され広く研究が進められている。現在までに種々のタイプのワクチンが提案され、一部のものは臨床試験に入っているが、未だにヒトに対し実際に感染予防あるいは発症抑制が証明された例はない。

これまでにワクチンの種類としては以下のものが考えられている。

- i) 不活化または弱毒化ウイルス粒子を用いるワクチン：HIVの病原性に関与する遺伝子を変異欠損させる方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1431, (1987))、HIVと共通抗原性を持つサルなどの新種ウイルスを用いるアプローチ(Science, 232, 238, (1987))が考えられるが、潜在的危険性から容易には実用化できない。
- ii) ウイルスの一部の抗原タンパクを用いるサブユニットワクチン：ウイルス粒

13. 請求項3記載のペプチド及び医薬的に許容される担体及び/又は希釈剤を含む抗AIDS予防・治療剤。
14. 請求項4記載のペプチド及び医薬的に許容される担体及び/又は希釈剤を含む抗AIDS予防・治療剤。
15. 請求項6記載のペプチド及び医薬的に許容される担体及び/又は希釈剤を含む抗AIDS予防・治療剤。
16. 請求項1記載のペプチドをAIDS患者に投与することによりAIDSを治療する方法。
17. HIVの全たんぱく質の断片であって、8個～11個のアミノ酸の連続する配列を含み、HLA結合モチーフに相当するペプチドを合成し、合成ペプチドのうち実際にHLAに結合するものを選択し、次いで選択した合成ペプチドのうちHLAクラスI抗原に結合してHIV疾患患者の末梢リンパ球を刺激してキラー細胞を誘導するものを選択することを特徴とするHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうるペプチドを採取する方法。

子のうちの一部抗原性タンパクのみを遺伝子組換え法などで生産し免疫原として用いるというアプローチ(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 6924, (1987)、Ann. Int. Med., 114, 119, (1991)、Nature, 355, 728, (1992))、最も広く試みられており、臨床試験例も多い。しかしながら中和抗体価が上がらなかったり、抗体価の持続性など克服すべき問題点が多い。またこのアプローチでは抗体産生など体液性免疫の増強には効果があると考えられるが、感染細胞を殺す細胞性免疫の活性化にはつながりにくく、HIVの感染様式から考えてこのアプローチのみの感染予防への効果は必ずしも期待できない。

ii) ワクシニアウイルスやBCG菌などの組換え生ワクチン：ヒトの細胞内で増殖可能なワクシニアウイルス(Nature, 332, 728, (1988))やBCG菌(Nature, 351, 479, (1991))の遺伝子にHIV由来の一部遺伝子配列を組み込み発現させる方法で、理論的には細胞性免疫増強効果が期待できる。問題点としては免疫力の低下した患者では通常無害なワクシニアウイルスなどでも重篤な感染がおこったりする可能性(Lancet 337, 1034, (1991))と、少なくとも今までに作られたワクシニアの組換え生ワクチンでは十分な免疫応答を起こしていない点等がある。

iv) 抗イディオタイプ抗体：ウイルス抗原のかわりに抗イディオタイプ抗体を免疫原として用いる方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 2546, (1992))が報告されている。

v) 合成ペプチドワクチン：中和抗体の決定領域のペプチド配列を化学合成したものなどが検討されている。特にエンベロープの糖タンパクgp120のV3領域は主要中和決定領域でありV3領域合成ペプチドをワクチンとする試みが行われている(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 6768, (1989))。

これらのワクチンの研究開発状況については、例えば高橋秀実、実験医学11巻655-8661頁(1993)、奥田研一・山川正、臨床と微生物20巻55-62頁、A. T. Profy: BioMedica 8巻133-139頁に記載される。

上記のような現在までのワクチンの研究開発は中和抗体を誘導する体液性免疫増強型のものが主であったが、HIVがフリーのウイルス粒子としてよりも感染

細胞と非感染細胞との融合によって伝播しやすいということから、中和抗体によ

る体液性免疫よりも感染細胞を障害する細胞障害性T細胞 (cytotoxic T cell, 以下「CTL」と略称する) による細胞性免疫が感染防御に重要と考えられる。実際、HIV感染の機会にさらされながら感染が成立しなかった個体について調べてみると血中抗体は検出されないが高頻度でCTLをもっており、早期のCTL誘導が感染予防に重要であることが報告されている (J. Infect. Dis., 164, 178, (1992))。

そこで本発明者らは、HIVが感染した細胞を特異的に障害するCTLを誘導できるペプチドを探索し、これを抗AIDS治療あるいは予防に利用することをめざした。

HIV感染細胞に対するCTLを効果的に誘導するにはCTLが認識する抗原エпитープを特定しこれをワクチンに応用することが極めて重要である。今まではじめにHIVに特異的なCTLクローンを作製し、そのCTLクローンが認識する抗原エпитープを特定するという方法をとっていた (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 3105, (1988))。この方法では、数多くのヒト白血球抗原 (以下「HLA」と略称する) クラスI抗原によってCTLに提示されるHIV抗原エпитープを特定するのに非常に多数のペプチド合成を要するため多大な時間と費用がかかると考えられ、エпитープの特定も進んでいなかった。

CTLは標的細胞表面に発現される主要組織適合性抗原複合体 (以下「MHC」と略称する) クラスI抗原によって抗原提示されたエпитープペプチドを認識して標的細胞を攻撃するが、最近、特定のMHCクラスI抗原に結合して抗原提示されるエпитープペプチドは9残基長内外のペプチドであってそのアミノ酸配列には一定の法則性 (モチーフ) があることが判明してきた (Nature, 351, 290, (1991), Eur. J. Immunol., 22, 2453, (1992), Nature, 353, 326, (1991), Nature, 360, 434, (1992), Immunogenetics, 38, 161, (1993))。

発明の開示

本発明は、HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチドを提供することを目的とする。

図面の簡単な説明

図1は、RMA-S-B* 3501細胞上におけるHLA-B* 3501抗原の発現レ

ベルの変化を示す。図中、△はHLA-B* 3501抗原結合性のある自己抗原ペプチド28H (LPQFKFLQY)、○は37F (LPQDFTPGY)、□は結合性のないペプチドMP-1 (KGILGVFTLTV) の添加によるHLA-B* 3501発現レベルの変化を示す。

図2は、ペプチドとしてHIV (B35) -16を用いたときの特異的細胞傷害活性を示す。図中、●は標的細胞がT2-B* 3501細胞の場合、○は標的細胞がT2細胞の場合でありコントロールである。ペプチドで刺激して培養した患者末梢リンパ球は、 1×10^4 、 2.5×10^4 あるいは 6.25×10^4 個の3段階の細胞数を用いたが、図に示される特異的細胞傷害活性の値は 1×10^4 個の細胞を用いたときのものである。

図3は、ペプチドとしてHIV (B35) -18を用いたときの特異的細胞傷害活性を示す。●は標的細胞がT2-B* 3501細胞の場合、○は標的細胞がT2細胞の場合でありコントロールである。ペプチドで刺激して培養した患者末梢リンパ球は、 1×10^4 、 2.5×10^4 あるいは 6.25×10^4 個の3段階の細胞数を用いたが、図に示される特異的細胞傷害活性の値は 1×10^4 個の細胞を用いたときのものである。

図4は、ペプチドとしてHIV (B35) POL-20を用いたときの特異的細胞傷害活性を示す。●は標的細胞がT2-B* 3501細胞の場合、○は標的細胞がT2細胞の場合でありコントロールである。ペプチドで刺激して培養した患者末梢リンパ球は、 1×10^4 、 2.5×10^4 あるいは 6.25×10^4 個の3段階の細胞数を用いたが、図に示される特異的細胞傷害活性の値は 1×10^4 個の細胞を用いたときのものである。

発明を実施するための最良の形態

HIVの全たんぱくは、例えば、Nature Vol. 313, p277-283 (1985) やProc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 83, p2209-2213 (1986) などに記載されている。本発明のペプチドは、上記HIVの全たんぱくの前片であって、該断片が8個

本発明は、又、上記ペプチドをコードするDNAを提供することを目的とする

本発明は、又、上記ペプチドを含有する抗AIDS予防・治療剤を提供することとを目的とする。

本発明は、又、HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチドの採取方法を提供することを目的とする。

本発明の上記及び他の目的は、以下の記載から明らかとなるであろう。

本発明は、それぞれのHLAクラスI抗原に結合する自己抗原ペプチドのモチーフから、そのHLAクラスI抗原に結合する可溶性のあるHIVペプチドを推定し、推定したHIVペプチドを合成し、ペプチドが結合していないHLAクラスI抗原を多量に発現している形質転換細胞を用いて、形質転換細胞上に多量に発現しているHLAクラスI抗原と実際に結合する合成ペプチドを選択し、次いで選択した合成ペプチドのうち、HLAクラスI抗原に結合した該合成ペプチドが患者の末梢血リンパ球を刺激してCTLを誘導できるものが抗AIDS予防・治療剤として有用であるとの知見に基づいてなされたのである。

すなわち、本発明は、HIVの全たんぱくの前片であって、該断片が8個〜11個のアミノ酸の連続する配列を含むペプチドであり、HLA結合モチーフに相当し、実際にHLAに結合し、かつHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうるペプチドを提供する。

本発明は、又、上記ペプチドをコードするDNAを提供する。

本発明は、又、上記ペプチド及び塩酸性的に許容される塩及び/又は希釈剤を含む抗AIDS予防・治療剤を提供する。

本発明は、又、HIVの全たんぱくの前片であって、8個〜11個のアミノ酸の連続する配列を含む、HLA結合モチーフに相当するペプチドを合成し、合成ペプチドのうち実際にHLAに結合するものを選択し、次いで選択した合成ペプチドのうちHLAクラスI抗原に結合してHIV疾患患者の末梢血リンパ球を刺激してキラー細胞を誘導するものを採取することを特徴とするHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうるペプチドを採取する方法を提供する。

〜11個、好ましくは8個〜11個のアミノ酸の連続する配列を含むペプチドである。本発明のペプチドは、さらに、HLA結合モチーフに相当し、実際にHLA

に結合することが必要である。ここで、HLA結合モチーフとしては、8個〜11個のアミノ酸配列であって、2番目がPro、C末端がTyr、Leu、Ile、Met、Phe及びAlaからなる群から選ばれるアミノ酸であるもの、2番目がPro、Ala及びGlyからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がIle、Leu、Val、Phe及びMetからなる群から選ばれるアミノ酸であるもの、2番目がLeu、Val、Tyr及びPheからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がArgであるものがあげられる。本発明においては、HLA結合モチーフに相当するペプチドが実際にHLAに結合するかどうかは、HLAクラスI抗原をもつ細胞をもちいて確認することができる。このような細胞としては、RMA-S-B* 3501細胞、RMA-S-B* 5101細胞及びRMA-S-A* 3101細胞などがあげられ、これらは、HLA-B* 3501遺伝子、HLA-B* 5101遺伝子やHLA-A* 3101遺伝子を、RMA-S細胞に導入することにより容易に得ることができる。尚、RMA-S細胞は、Ljunggren et al., J. Immunol., 142, 2911, (1989) に記載されている。

本発明では、さらにHLAクラスI抗原に結合した合成HIVペプチドが実際に患者の末梢血リンパ球を刺激しCTLを誘導できること、つまりHIV感染細胞を標的とするキラー細胞を誘導しうることを必要とする。

このようなペプチドとしては、配列番号1から63のペプチドを例示することができる。

配列番号1から24のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドは、HLA-B3501抗原に結合するペプチドであって、RMA-S-B* 3501細胞を利用して得られたものである。配列番号25から46のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドは、HLA-B51抗原に結合するペプチドであって、RMA-S-B* 5101細胞を利用して得られたものである。又、配列番号47から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドは、HLA-A3101抗原に結合す

るペプチドであって、RMA-S-A* 3101細胞を利用して得られたものである。本発明のペプチドを得る手段は、後述の実施例で詳しく述べる。

配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドは、当業者が周知の方法により合成又は製造できる。近年はペプチドシンセサイザーが

発達したため、数十の残基よりなるペプチドも容易に製造できる。あるいは、配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAを適当な発現ベクターに挿入し、これによって形質転換されたエシェリヒア属細菌等の細胞を培養することによっても製造できる。このような、遺伝子組換え技術を用いたタンパク質やペプチドの製造法は当業者間でよく知られている。

配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAは、配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列より選択できる。各アミノ酸残基に対応するコドンは当業者において周知である。該DNAを細胞に導入して発現させる場合には、各細胞において好まれるコドンがある場合があるのでこれを参考にする。たとえばエシェリヒア属細菌細胞内で好まれるコドンを用いる場合には、配列番号3のアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAの例としては、配列番号4の塩基配列を有するDNAがある。配列番号4のアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAの例としては、配列番号5の塩基配列を有するDNAがある。配列番号5のアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAの例としては、配列番号6の塩基配列を有するDNAがある。

配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドは、CTL細胞エビトープとしてHIV特異的CTLを誘導することができるのでワクチンとして非常に有用である。実際のワクチンとしての使用はペプチド溶液をそのまま、または適当な補助剤とともに注射器で投与することもできる。噴霧などの方法で粘膜からの経皮吸収などで投与してもよい結果が得られる。投与量は1回0.1から100mgで単回または繰り返し投与する。また上記に方法で選択した塩基のエビトープペプチドを同時に用いるとさらに効果的である場合が多い。製剤として

Med., 313, 4185. (1985) 及び Science, 233, 1318. (1986) である。

また本発明で明らかにされたCTLエビトープはワグシニアウイルスやBCG菌組換え生ワクチンなどでも有効に活用できる。すなわちこれらの組換え生ワクチンにおいて発現させる組換え抗原タンパク遺伝子中に配列番号1から63のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドをコードするDNAを組み込んでおけば、該ペプチド配列が抗原タンパクの一部として発現したのち細胞内でプロセ

スされてHLAクラスI抗原により提示され、これを認識するCTLを誘導することができる。BCG菌における外来遺伝子の発現方法は国際特許公開WO88/06626に詳しい。BCG菌組換え生ワクチンについては、Exp. Med., 178, 197. (1993) に詳しい。投与量、投与方法は通常の種痘やBCGワクチンに準じて行うことができる。急性毒性等も通常の種痘やBCGワクチンと変わるところはない。ただしワグシニアウイルスの場合AIDSが発症し、免疫能が低下している患者には重篤感染の危険性があり、治療用ワクチンとしては慎重に行う必要がある。BCGワクチンについてはこのような事例はまだない。このような方法で主体にCTLなどの免疫応答を誘導できることはNature, 332, 728. (1988) やNature, 351, 479. (1991) などに示されている。

HIVワクチンの大きな問題点はHIVが容易に変異を起こして宿主免疫を逃れる点にある。したがって免疫原として一つのエビトープのみを組めたワクチンではやがて効力失う可能性が大である。その点、本発明により明らかになった多数のエビトープを免疫原とするワクチンの有用性はきわめて高い。

次に実施例により本発明を説明する。

実施例1

(1) HLA-B*3501結合自己抗原ペプチドのモチーフよりHLA-B*3501結合のHIVペプチドの推定

HLA-B*3501結合自己抗原ペプチドのモチーフは以前に明らかにされており(Nature, 350, 434. (1992), Immunogenetics, 38, 161 (1993))、その結果よりHIVタンパク由来ペプチドのうち自己抗原ペプチドと同様に8から12残基のアミノ酸からなるペプチドであって、2番目がPro、C末端がTyr、

は疎水性、側鎖などの賦形剤を加えて顆粒にするなどよく、別段に特別のものを要さない。注射投与する際に注射用無菌水で溶解して用いる。本剤はペプチド化合物であり上記投与方法で問題となる風湿急性毒性はない。

ワクチンに添加して免疫原性を高める補助剤としてはBCG菌などの菌体成分、Morelらにより開発されたQuilAという樹皮から抽出したISCOM

(Immunostimulating complex) (Nature, 308, 457. (1984), Nature, 344, 873. (1990))、サポニン系のQS-21 (J. Immunol., 148, 1438. (1992))、リポソーム (J. Immunol., 148, 1585. (1992))、水酸化アルミニウム(アラム)、KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) (J. Virol., 65, 489. (1991)) などが利用できる。このような方法で生体内にCTLなどの免疫応答を誘導できることは上記記載のそれぞれの先行文献やScience, 255, 333. (1992) などにも述べられている。

患者から採取した細胞または同ハプロタイプのHLAクラスI抗原をもつ細胞に試験管内で当該エビトープペプチドを導入して抗原提示させたのち患者血漿中に投与し、患者体内で効果的にCTLを誘導させる方法、患者末梢血リンパ球に同ペプチドを加えて試験管内で培養、試験管内でCTLを誘導増殖させたのち患者にもどす方法も本発明で明らかにされたエビトープペプチドを使うことにより有効に適用することができる。従って、HLA-B*3501抗原を有する末梢血リンパ球を、配列番号1から24のうちいずれかのアミノ酸配列を有するペプチド存在下で培養して得られる細胞障害性T細胞を抗AIDSワクチンとして用いることもできる。実際には患者末梢血リンパ球1.0'から1.0'個に当該ペプチド0.01から1mgを加えて数時間から1日培養した後患者静脈中に投与するか、あるいはさらに組換えインターロイキン2 (recombinant IL-2) を500U/mlと当該ペプチド1μg/mlを加えた培養液で数週間増殖交換しながら培養を継続して試験管内でCTLを誘導してから患者静脈より注入する。培養の方法は当業者間でよく知られている通常の方法でよく、培養後は遠心分離等で培地成分を洗浄後生理食塩水等に懸濁して投与する。このような細胞注入による治療はすでに臨床療法として実施されており、当業者間ではよく知られている方法である (New Eng. J.

Leu, Ile, Met, Pheのうちの一つをもったものがHLA-B*3501に結合しやすいと推定された。HIVを構成する全タンパク質のアミノ酸配列はすでに報告がされているので、この配列の中からHLA-B*3501結合自己抗原ペプチドのモチーフと合致するものを選び出した。ARV-2株HIVのタンパク配列のうちこれに合致するペプチドは表1に示した58種類のものである。これらのペプチドを島津製作所製のペプチドシンセサイザーで合成し、HLA-B*3501抗原への結合測定実験に供した。

表 1

HIV(B35)-1	RPGCKKKY	HIV(B35)-11	PPFLVSGY
HIV(B35)-2	VPLRPHTY	HIV(B35)-13	PPLVKKLY
HIV(B35)-3	TPGCGIRY	HIV(B35)-14	NPDIYIQY
HIV(B35)-4	PPIPVCGIY	HIV(B35)-15	EPFFLVSGY
HIV(B35)-5	GPKEPFRDY	HIV(B35)-16	TPPLVKKLY
HIV(B35)-6	QPKTACTICTY	HIV(B35)-18	EPVGAETFY
HIV(B35)-7	NPPIPVCGIY	HIV(B35)-19	EPFVKKLTQKY
HIV(B35)-8	EPFVYDQFY	HIV(B35)-20	IPATCGETAY
HIV(B35)-10	TPGIRYQY		
HIV(B35)GAG-8	TPQDLNTHL	HIV(B35)GAG-21	CPCHKARVL
HIV(B35)GAG-13	NPPIPVCGI	HIV(B35)GAG-26	APPEESFRP
HIV(B35)GAG-20	GPAATLEEN		
HIV(B35)POL-1	LPGRYKPKH	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSH
HIV(B35)POL-7	VPVKKLPGH	HIV(B35)POL-27	YPCIKYRQL
HIV(B35)POL-9	GPVKKQGPL		
HIV(B35)ARY2-1	EPIDKELY	HIV(B35)ARY2-25	EPVGAETFY
HIV(B35)ARY2-2	EPVHEVYY	HIV(B35)ARY2-26	QPKSESEL
HIV(B35)ARY2-3	QPRATQNCY	HIV(B35)ARY2-27	LPPVYAKKI
HIV(B35)ARY2-4	VPLKDFRKY	HIV(B35)ARY2-28	VPRKAKII
HIV(B35)ARY2-5	RPDLHSLQY	HIV(B35)ARY2-29	DPGLADQLI
HIV(B35)ARY2-6	RPQVLRPHY	HIV(B35)ARY2-30	TPKTKPPL
HIV(B35)ARY2-7	RPVNTKSIY	HIV(B35)ARY2-31	PPLPSVQL
HIV(B35)ARY2-8	FPVRPQVPL	HIV(B35)ARY2-32	FPRPQLHSL
HIV(B35)ARY2-9	BPQVLRPH	HIV(B35)ARY2-33	DPKQEVVL

マウスの細胞株である。このため、細胞表面上にMHCクラスI抗原が37℃で増殖した時には低レベルでしか細胞表面上には発現しない。しかし低温(26℃)で増殖するとペプチドをとりこんでいないクラスI抗原が高レベルで細胞表面上に発現することが知られている(Ljunggren et al., Nature, 346: 476, (1990))。

RMA-S-B* 3501細胞でも同様にHLA-B* 3501抗原は26℃で増殖した時には高レベルで細胞表面上に発現するが、37℃で増殖するとその発現は低下する。また26℃で増殖しておいたRMA-S-B* 3501細胞上のHLA-B* 3501抗原の発現は37℃に3時間おくことにより、37℃で増殖した場合と同じに発現量は低くなる。しかしながらペプチドが結合していないHLA-B* 3501抗原に外から加えたペプチドが結合すると、ペプチドの結合したHLA-B* 3501抗原は37℃に置いても消失せず高発現量が保たれる。図1はHLA-B* 3501抗原結合性のある自己抗原ペプチド28H(LPGPKFLQY: グラフ中△で表現される)と37F(LPFDFTPGY: グラフ中○で表現される)と、結合性のないペプチドMP-1(KGILCKVFILTY: グラフ中□で表現される)の添加によるHLA-B* 3501発現レベルの変化について調べたもので、HLA-B* 3501抗原の発現量が結合活性のあるペプチドの添加に依存しているという結果が得られた。HLA-B* 3501抗原結合性のある自己抗原ペプチド28H、37Fと、結合性のないペプチドMP-1についてはNature, 360: 434, (1992), Immunogenetics, 38: 161, (1993)に記載されている。従ってこの実験系を用いることによりはじめて、外から加えたペプチドのHLA-B* 3501への結合活性をHLA-B* 3501抗原の細胞表面発現量を指標として容易に評価することができるようになった。実際の被検ペプチドの結合測定操作は26℃で増殖したRMA-S-B* 3501細胞に該ペプチドを加えて26℃で1時間、その後37℃に3時間置いた後に抗HLA-Bw6単クローン抗体、SFR8-B6(ATCC HB152)を用いてHLA-B* 3501抗原の発現レベルを測定することにより行った。なお、△はペプチド非添加のコントロール、○はペプチド非添加でありかつ26℃でのみ増殖を行ったコントロール、□はペプチド非添加でありかつ37℃でのみ増殖を行ったコントロールである。

HIV(B35)ARY2-10	RRPHTYKAAL	HIV(B35)ARY2-34	KPCVLTPL
HIV(B35)ARY2-11	YPLTFQCF	HIV(B35)ARY2-35	CPVVSFPPI
HIV(B35)ARY2-12	LPPLERLTL	HIV(B35)ARY2-36	RPVSTQLL
HIV(B35)ARY2-18	TPSQQDEPI	HIV(B35)ARY2-37	DPEVHISF
HIV(B35)ARY2-19	YPLTSLRSL	HIV(B35)ARY2-38	LPCRIKQII
HIV(B35)ARY2-20	LPGCKPKH	HIV(B35)ARY2-39	SPLSFQTL
HIV(B35)ARY2-24	IPLTEAEL		

(2) HLA-B* 3501抗原との合成HIVペプチドの結合測定

合成したHIVペプチドが結合するかを、HLA-B* 3501を発現しているマウス細胞株RMA-S株を用いて測定した。

2-1. RMA-S-B* 3501細胞の作成

HLA-B* 3501遺伝子はこの抗原をもっているヒトの末梢血リンパ球の染色体DNAから以前に報告されている方法(Ooba et al., Immunogenetics, 30: 76, (1989))によりクローニングすることができる。すなわちHLA-B* 3501抗原をもつヒトの末梢血リンパ球より誘導により染色体DNAを制限酵素EcoRIで消化後ショ糖密度勾配法により6.0-8.5kbの断片を得た。このDNA断片をファージベクターλZAP(両様所社より購入)に挿入しゲノムライブラリーを作成した。このライブラリーをHLA-B* 3501 cDNA(Coppin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 8614, (1985))をプローブとしてスクリーニングしHLA-B* 3501遺伝子をもつクローンを得た。得られた遺伝子をRMA-S細胞(Ljunggren et al., J. Immunol., 142: 2911, (1989))にelectroporation法により遺伝子移入し、発現細胞を抗HLA-Bw6単クローン抗体、SFR8-B6(ATCC HB152)を用いてflow cytometryによって選別した。RMA-S-B* 3501細胞は適産省工芸技術院生命工学工芸技術研究所に寄託されており、受託番号FERH-BP-4727が付与されている。

2-2. RMA-S-B* 3501細胞を用いたHIV合成ペプチドのHLA-B* 3501抗原への結合測定

RMA-S細胞はTAP (Transporter Associated Protein) 抗原が欠損した

58種類のHIVペプチドのHLA-B* 3501抗原に対する結合を測定したところ、表2に示すように26種類のペプチドが結合した。

表 2

結合の強弱性	ペプチド	配列	位置
高親和性	HIV(B35)-3	TPGCGIRY	ref 133-139
	HIV(B35)-14	NPDIYIQY	pol 330-338
	HIV(B35)ARY2-8	FPVRPQVPL	ref 72-80
	HIV(B35)-18	TPPLVKKLY	pol 574-582
中親和性	HIV(B35)-18	EPVGAETFY	pol 587-596
	HIV(B35)-20	IPATCGETAY	pol 804-814
	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSH	pol 311-319
	HIV(B35)ARY2-11	YPLTFQCF	ref 139-147
低親和性	HIV(B35)ARY2-19	YPLTSLRSL	ref 486-494
	HIV(B35)ARY2-25	EPVGAETFY	pol 587-595
	HIV(B35)-7	NPPIPVCGIY	ref 255-264
	HIV(B35)-8	EPFVYDQFY	ref 293-303
	HIV(B35)-15	EPFFLVSGY	pol 379-387
	HIV(B35)-19	EPFVKKLTQKY	pol 587-596
	HIV(B35)GAG-20	GPAATLEEN	ref 340-348
	HIV(B35)GAG-26	APPEESFRP	ref 459-467
	HIV(B35)ARY2-1	EPIDKELY	ref 479-486
	HIV(B35)ARY2-2	EPVHEVYY	pol 467-474
	HIV(B35)ARY2-4	VPLKDFRKY	pol 273-282
	HIV(B35)ARY2-6	RPQVLRPHY	ref 75-85
	HIV(B35)ARY2-9	RPQVLRPH	ref 75-83
	HIV(B35)ARY2-12	LPPLERLTL	ref 75-83
	HIV(B35)ARY2-24	IPLTEAEL	pol 448-456
	HIV(B35)ARY2-33	DPKQEVVL	ref 77-85
	HIV(B35)ARY2-36	RPVSTQLL	ref 255-263

HIV(B35)ARY2-38 LPCRIKQ11 env 413-421

(3) HLA-B* 3501結合ペプチドを用いたHIV感染患者からのCTLの誘導

HLA-B* 3501をもつた3人のHIV感染患者、患者A (HLA-A24/31, B35/61, Cw3/-)、患者B (HLA-A24/26, B35/61, Cw3/-) および患者C (HLA-A24/26, B35/51, Cw3/-) からリンパ球を分離した。リンパ球の分離は通常のFicoll-Conray比重遠心法(矢野純一、藤原道夫編著、「新リンパ球機能検査法」、中外医学社(1987)、新化学実験講座12「分子免疫学」(東京化学同人(1989))によった。すなわちヘパリン加注射器で採血後、生理食塩水で希釈、Ficoll-Paque分離液(Pharmacia社)上に重層後400×g 30分室温で遠心した。中間層のリンパ球画分をピペットで回収、洗浄して以下に用いた。24穴培養プレートの各wellに2×10⁶個のリンパ球を入れさらにヒトのrecombinant IL2および合成ペプチドの最終濃度が50 U/mlおよび1 μMになるように調製したRPMI 1640 (10% FCS含) 培養液で培養する。2日-3日おきに、50 U/ml濃度のIL2が入っているRPMI 1640培養液を半量加える。1週間後に、PHAで刺激したのち放射線照射した自己リンパ球(1×10⁶)と1 μMの合成ペプチドをそれぞれ加えて特異的CTL細胞を再刺激し増殖させた後、さらに1週間培養し、CTL活性を測定した。

(4) HLA-B* 3501結合ペプチドを用いて誘導されたCTLによる細胞障害活性の測定

4-1. T2-B* 3501細胞の作製

TAP抗原遺伝子欠損ヒトリンパ細胞株T2細胞(Salter et al., EMBO J., 5, 943, (1986))にHLA-B* 3501遺伝子をelectroporation法により遺伝子移入し、発現細胞をSF-R-B6単クローン抗体を用いてflow cytometryによって選択した。この細胞をT2-B* 3501細胞と命名した。T2-B* 3501細胞は通産省工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、受託番号FERM BP-4726が付与されている。

これら合成ペプチドが有効であることが確認された。

同様の方法により表2に記載のペプチドについて、HIVに対する免疫応答を誘導できるか否かについて調べた。このうちHIVに対する免疫応答を誘導できるペプチドをまとめて表3に示す。

表 3

結合の親和性	ペプチド	配列	位置
高親和性	HIV(B35)-14	NPDIYIYQY	pol 330-338
	HIV(B35)ARY2-6	FPYRPQYPL	nef 72-80
中親和性	HIV(B35)-16	TPPLVLYTY	pol 574-582
	HIV(B35)-18	EPVICAETTY	pol 587-596
	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSM	pol 311-319
	HIV(B35)ARY2-11	YPLTFQWCF	nef 139-147
	HIV(B35)ARY2-25	EPVICAETTY	pol 587-596
低親和性	HIV(B35)ARY2-4	YPLDKDFRXY	pol 273-282
	HIV(B35)ARY2-6	RQVPLRPMTY	nef 75-85
	HIV(B35)ARY2-24	IPLTEAEEL	pol 448-456
	HIV(B35)ARY2-33	DPNPQYLYL	env 77-85
	HIV(B35)ARY2-38	RPIYSTOLL	env 255-263
	HIV(B35)ARY2-38	LPCRIKQ11	env 413-421

同様にMN株、NDK株、HXB2株HIV配列について検索し、表4に示すペプチドが選択された。

HLA-B35の患者がHIVに感染し発病した場合、HIVに感染したリン

パ細胞はHLA-B* 3501抗原を細胞表面に発現しHIVペプチドを提示する。T2-B* 3501細胞は、(2)で示したRMA-S-B* 3501細胞と同様に、26℃培養ではペプチドを結合していないHLA-B* 3501抗原を多量に発現する。そこで、この条件下でペプチドを結合させ、いわばHIVに感染したリンパ細胞を人為的に創り出し、CTLの細胞障害活性を測定する標的細胞として用いた。

4-2. CTLの細胞障害活性の測定

1×10⁶個のT2-B* 3501細胞あるいはT2細胞を100 μCiの⁵¹CrO₃に26℃で90分間処理し、その後10% FCS含有RPMI 1640培養液で3回洗浄し標的細胞とする。96穴プレートの各穴に50 μlの培養液中に浮遊させた5×10³個の標的細胞(T2あるいはT2-B* 3501細胞)を加える。さらに4 μMから4×10⁻⁴ μMまで希釈した合成ペプチドの溶液を5 μl加え30分間、CO₂インキュベーターに放置した後、前項のペプチドで刺激して培養した患者未梢リンパ球を1×10⁵、2.5×10⁵あるいは6.25×10⁵個(100 μlの培養液に浮遊させる)を加え、37℃のCO₂インキュベーターに4時間放置した。その後各穴の半量の培養液(100 μl)をとり、ガンマカウンターにて培養患者未梢リンパ球の細胞障害活性によって標的細胞から遊離された⁵¹Crを測定した。特異的細胞障害活性を次のとおり計算した。

各穴の測定値-最小放出値

$$\text{特異的細胞障害活性} = \frac{\text{各穴の測定値} - \text{最小放出値}}{\text{最大放出値} - \text{最小放出値}} \times 100$$

最大放出値-最小放出値

ただし、最小放出値は標的細胞のみはいつている穴の測定値で標的細胞からの⁵¹Crの自然遊離値、最大放出値は標的細胞に界面活性剤トリトンx-100を加えて細胞を破壊した際の標的細胞遊離値を示している。

結果を図2、3及び4に示す。図2はHIV(B35)-16(配列番号3)、図3はHIV(B35)-18(配列番号4)、図4はHIV(B35)POL-20(配列番号6)の結果である。合成ペプチドが結合したT2-B* 3501細胞を傷害するCTLの誘導にこ

表 4

結合の親和性	ペプチド	配列	位置
高親和性	HIV(B35)GAG-24	FPOSRTPT	gag 450-458(MN)
	HIV(B35)POL-5	FPISPIETV	pol 155-163
中親和性	HIV(B35)-17	YPLDEDFRXY	pol 182-191(MN)
	HIV(B35)-20	EPVICAETTY	pol 586-595(NDK)
	HIV(B35)GAG-9	HPWAGPIT	gag 219-227(MN)
	HIV(B35)GAG-29	YPLASLKS	gag 490-498(MN)
低親和性	HIV(B35)-9	KPOVPLRPMTY	nef 73-83(MN)
	HIV(B35)-12	EPVINGYTY	pol 466-473(NDK)
	HIV(B35)-25	NPEIYIYQY	pol 329-327(NDK)
	HIV(B35)GAG-4	YPIVQNIET	gag 135-143(MN)
	HIV(B35)POL-26	LPEKDSVTV	pol 401-409

実施例2

HLA結合モチーフとして、8個~11個のアミノ酸配列であって、2番目がPro、Ala及びGlyからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がIle、Leu、Val、Phe及びMetからなる群から選ばれるアミノ酸であるHLA-B51結合抗原ペプチドのモチーフを用いたSF-2株HIVのタンパク配列及びRMA-S-B* 5101細胞を用いた以外は実施例1と同様にして、HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチドを得た。このペプチドをまとめて表5に示す。尚、RMA-S-B* 5101細胞は、通産省工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、受託番号FERM BP-4834が付与されている。

表 5

ペプチド	配列	位置
HIV-B35-GAG-13(A55)	NPP1PYGEI	GAG255-264
HIV-B35-GAG-29(A69)	YPLASLKL	GAG490-498
HIV-B35-POL-5(A74)	FPISPIETV	POL155-163
HIV-B35-POL-7(A76)	VPVKLKPGM	POL163-171
HIV-B35-POL-26(A95)	LPEKDSVTY	POL401-409
HIV-B35-SF2-8(C-1)	FPVRPQVPL	NEF71-80
HIV-B35-SF2-21(C-7)	YPLTSLRSL	GAG486-494
HIV-B35-SF2-27(C-12)	LPPVYAKEI	POL743-751
HIV-B35-SF2-32(C-17)	FPRPVLHSL	YPR34-42
HIV-B35-SF2-35(C-20)	CPKYSFEPI	ENV208-216

HIV-B35-SF2-38(C-23)	LPGR1KQ11	ENV413-421
HIV-B35-33(C-31)	YPCYVWTI	ENV618-626
HIV-B35-34(C-32)	LPALSTGLI	ENV682-690
HIV-B35-36(C-34)	CPSQHAVGI	ENV1171-1179
HIV-B35-39(C-37)	IPTSQGVYI	ENV142E-1434
HIV-B35-50(C-48)	LPPT1GPP1	ENV2316-2324
HIV-B35-55(C-53)	APTLNARM1	ENV2835-2843
HIV-B35-56(C-54)	EPLDLPLQ11	ENV2874-2882
HIV-B51-3(H-3)	NANPOCKT1	GAG327-335
HIV-B51-7(H-7)	TAYQSAVF1	POL688-697
HIV-B51-9(H-9)	RAFHTTGR1	ENV316-324
HIV-B51-10(H-10)	YAPP1GQY1	ENV432-440
HIV-B51-11(H-11)	QARQLLSG1	ENV539-547
HIV-B51-12(H-12)	YAGRAYRA1	ENV831-839
HIV-B51-13(H-13)	RAYRAILH1	ENV834-842
HIV-B51-29(H-18)	VGP1PVN11	POL133-141
HIV-B51-32(H-21)	QGVKGSPI1	POL306-314
HIV-B51-43(H-32)	VGGLVGLR1	ENV688-696
HIV-B51-53(H-42)	DARAYDTEY	ENV56-64
HIV-B51-54(H-43)	NALFRKLBY	ENV171-179
HIV-B51-70(H-50)	PLGDAKLY	VIF57-65
HIV-B51-71(H-51)	GPCTNSTY1	ENV240-248
HIV-B51-83(H-63)	CGHKA1GTY	POL123-131

実施例3

HLA結合モチーフとして、8個～11個のアミノ酸配列であって、2番目がLeu、Val、Tyr及びPheからなる群から選ばれるアミノ酸であり、C末端がArgであるHLA-A*3101結合抗原ペプチドのモチーフを用い、かつMN株HIVのタンパク配列又はSF-2株HIVのタンパク配列及びRMA-S

S-A*3101細胞を用いた以外は実施例1と同様にして、HIVに対する免疫応答を誘導できるペプチドを得た。このペプチドをまとめて表6に示す。RMA-S

A*3101細胞は、通産省工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、受託番号FERN BP-4833が付与されている。

表 6

ペプチド	配列	位置	K*値
C-119	IVMSIFNCR	ENV373-381	3.0×10^{-4}
C-121	YLAVERYLR	ENV579-587	9.0×10^{-4}
C-117	NYRLINCAR	ENV193-201	1.1×10^{-4}
C-104	HYHQAISPR	GAG144-152	1.4×10^{-4}
C-114	SVKLTEDR	VIF165-173	1.4×10^{-4}
C-124	SLCLFSYRR	ENV761-769	2.2×10^{-4}
C-125	CLFSYRRLR	ENV763-771	2.2×10^{-4}
C-111	AVFIIHFKR	POL893-901	2.9×10^{-4}
C-100	KLAFFHDMR	NEF192-200	3.7×10^{-4}
C-118	TYQCTHGIR	ENV247-255	7.4×10^{-4}
C-113	ILGYRYSR	VIF124-132	8.0×10^{-4}
C-112	IVSQYDNR	VIF5-17	$>10^{-4}$
C-98	PVRPQVPLR	NEF73-81	$>10^{-4}$
C-126	ILHIHRRIR	ENV838-846	$>10^{-4}$
C-106	ELYPLTSLR	GAG424-432	$>10^{-4}$
C-123	VLSIVNRYR	ENV700-708	$>10^{-4}$
C-122	IVGGLVGLR	ENV687-695	$>10^{-4}$

産業上の利用分野

本発明のペプチドは、HIVに対する免疫応答を誘導できるので、抗AIDS予防・治療剤として有効に利用することができる。具体的には、上記ペプチドを

含有する抗AIDSワクチン、上記ペプチドをコートするDNA含む組換えDNA、Aを有するワクシニアウイルス及びBCG菌を含有する抗AIDSワクチンとして利用することができる。又、上記ペプチドの存在下で、HLA-B抗原を有する株血リンパ球を培養して得られる細胞障害性T細胞を含有する抗AIDS治

療剤として利用することができる。

配列表

配列番号: 1

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr

配列番号: 2

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu

配列番号: 3

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

(26)

WO95/11255

配列

Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr

配列番号: 4

配列の長さ: 10

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr

配列番号: 5

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met

配列番号: 6

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

(28)

WO95/11255

配列番号: 10

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu

配列番号: 11

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asp Pro Asn Pro Gln Glu Val Val Leu

配列番号: 12

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Arg Pro Ile Val Ser Thr Gln Leu Leu

配列番号: 13

(27)

WO95/11255

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe

配列番号: 7

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe

配列番号: 8

配列の長さ: 10

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Pro Leu Asp Lys Asp Phe Arg Lys Tyr

配列番号: 9

配列の長さ: 11

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr

(29)

WO95/11255

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile

配列番号: 14

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Phe Pro Gln Ser Arg Thr Glu Pro Thr

配列番号: 15

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Phe Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val

配列番号: 16

配列の長さ: 10

(30)

WO 95/11255

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr

配列番号: 17

配列の長さ: 10

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Glu Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Phe Tyr

配列番号: 18

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Thr

配列番号: 19

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

(32)

WO 95/11255

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr

配列番号: 23

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Pro Ile Val Gln Asn Ile Glu Gly

配列番号: 24

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val

配列番号: 25

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

(31)

WO 95/11255

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu

配列番号: 20

配列の長さ: 11

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Lys Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr

配列番号: 21

配列の長さ: 8

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr

配列番号: 22

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

(33)

WO 95/11255

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile

配列番号: 26

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu

配列番号: 27

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met

配列番号: 28

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

(34)

WO95/11255

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg Ser Leu

配列番号: 29

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile

配列番号: 30

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Phe Pro Arg Pro Trp Leu His Ser Leu

配列番号: 31

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

(36)

WO95/11255

Arg Ala Phe His Thr Thr Gly Arg Ile

配列番号: 35

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Tyr Ala Pro Pro Ile Gly Gly Gln Ile

配列番号: 36

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile

配列番号: 37

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Ala Gln Arg Ala Tyr Arg Ala Ile

(35)

WO95/11255

配列

Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile

配列番号: 32

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile

配列番号: 33

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile

配列番号: 34

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

(37)

WO95/11255

配列番号: 38

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Arg Ala Tyr Arg Ala Ile Leu His Ile

配列番号: 39

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile

配列番号: 40

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile

配列番号: 41

(38)

WO 95/11255

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile

配列番号: 42

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asp Ala Arg Ala Tyr Asp Thr Glu Val

配列番号: 43

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Ala Leu Phe Arg asn Leu Asp Val

配列番号: 44

配列の長さ: 9

(40)

WO 95/11255

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Arg

配列番号: 48

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Arg

配列番号: 49

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Asn Tyr Arg Leu Ile His Cys Asn Arg

配列番号: 50

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

(39)

WO 95/11255

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Pro Leu Gly Asp Ala Lys Leu Val

配列番号: 45

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val

配列番号: 46

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Cys Gly His Lys Ala Ile Gly Thr Val

配列番号: 47

配列の長さ: 9

(41)

WO 95/11255

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Met Val His Glu Ala Ile Ser Pro Arg

配列番号: 51

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ser Val Lys Lys Leu Thr Glu Asp Arg

配列番号: 52

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr Arg Arg

配列番号: 53

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

(42)

WO 95/11255

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Cys Leu Phe Ser Tyr Arg Arg Leu Arg

配列番号: 54

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg

配列番号: 55

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Lys Leu Ala Phe His His Met Ala Arg

配列番号: 56

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

(44)

WO 95/11255

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg

配列番号: 60

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Leu His Ile His Arg Arg Ile Arg

配列番号: 61

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg

配列番号: 62

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

(43)

WO 95/11255

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Arg

配列番号: 57

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Leu Gly Tyr Arg Val Ser Pro Arg

配列番号: 58

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Val Trp Gln Val Asp Arg Met Arg

配列番号: 59

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

(45)

WO 95/11255

配列

Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg

配列番号: 63

配列の長さ: 9

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

Ile Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg

配列番号: 64

配列の長さ: 27

配列の型: 核酸

トポロジー: 直鎖状

鎖の数: 二本鎖

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

ACTCCGCCGC TGGTTAACT GTGGTAC

配列番号: 65

配列の長さ: 30

配列の型: 核酸

トポロジー: 直鎖状

鎖の数: 二本鎖

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

GAACCGATCG TTGCTGCTGA AACTTTCTAC

配列番号: 66

配列の長さ: 27

配列の型: 核酸

トポロジー: 直鎖状

頻の数: 二本頻

起源

・生物名: ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus)

配列

TCTCCGGCTA TCTTCCAGTC TTCTATG

国際形式 INTERNATIONAL FORM

[特許手続上の微生物の保蔵の目的に
に添付するプロトコル]下記保蔵所長官署によって証明し、1に
掲げられる

保蔵所長官署

氏名 (名称) 保蔵所長官署

〒104 東京都中央区一丁目1番1号

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

Issued pursuant to Rule 7.1 of the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY identified at the bottom of this page.

1. 微生物の表示	
(前記者が付した識別のための表示) HMA-6-6-311	(保蔵番号) FERM BP-4727
2. 科学的性質及び分類学上の位置	
1 種の微生物には、次の事項を記載した文書が添付されている。 <input checked="" type="checkbox"/> 科学的性質 <input checked="" type="checkbox"/> 分類学上の位置	
3. 実効及び発現	
本保蔵所長官署は、平成 5年 10月15日 (保蔵日B) に受理した1種の微生物を受託する。	
4. 保蔵所長の受領	
本保蔵所長官署は、平成 5年 10月15日 (保蔵日B) に1種の微生物を受託した。 そして、平成 5年 6月30日に保蔵所よりプロトコルに基づき保蔵への受託請求を受領した。 平成 5年 10月15日に保蔵された微生物保蔵番号 P-13909 号より受領	
5. 保蔵所長官署	
保蔵所長官署 工業技術院生命工学工業技術研究所	
名称: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology 〒104 東京都中央区一丁目1番1号 (保蔵番号 4727) 1-3, Higashi 1-chome, Chuo-ku, Tokyo 104, JAPAN	

国際形式 INTERNATIONAL FORM

[特許手続上の微生物の保蔵の目的に
に添付するプロトコル]下記保蔵所長官署によって証明し、1に
掲げられる

保蔵所長官署

氏名 (名称) 保蔵所長官署

〒104 東京都中央区一丁目1番1号

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

Issued pursuant to Rule 7.1 of the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY identified at the bottom of this page.

1. 微生物の表示	
(前記者が付した識別のための表示) T3-6-5501	(保蔵番号) FERM BP-4726
2. 科学的性質及び分類学上の位置	
1 種の微生物には、次の事項を記載した文書が添付されている。 <input checked="" type="checkbox"/> 科学的性質 <input checked="" type="checkbox"/> 分類学上の位置	
3. 実効及び発現	
本保蔵所長官署は、平成 5年 10月15日 (保蔵日B) に受理した1種の微生物を受託する。	
4. 保蔵所長の受領	
本保蔵所長官署は、平成 5年 10月15日 (保蔵日B) に1種の微生物を受託した。 そして、平成 5年 6月30日に保蔵所よりプロトコルに基づき保蔵への受託請求を受領した。 平成 5年 10月15日に保蔵された微生物保蔵番号 P-13908 号より受領	
5. 保蔵所長官署	
保蔵所長官署 工業技術院生命工学工業技術研究所	
名称: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology 〒104 東京都中央区一丁目1番1号 (保蔵番号 4726) 1-3, Higashi 1-chome, Chuo-ku, Tokyo 104, JAPAN	

国際形式 INTERNATIONAL FORM

[特許手続上の微生物の保蔵の目的に
に添付するプロトコル]下記保蔵所長官署によって証明し、1に
掲げられる

保蔵所長官署

氏名 (名称) 保蔵所長官署

〒104 東京都中央区一丁目1番1号

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

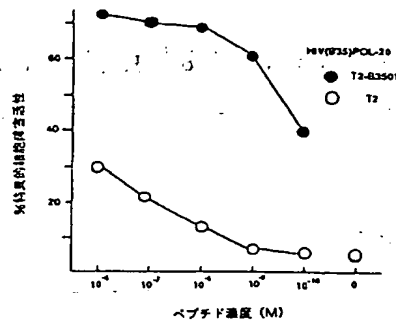
RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

Issued pursuant to Rule 7.1 of the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY identified at the bottom of this page.

1. 微生物の表示	
(前記者が付した識別のための表示) HMA-6-6-311	(保蔵番号) FERM BP-4834
2. 科学的性質及び分類学上の位置	
1 種の微生物には、次の事項を記載した文書が添付されている。 <input checked="" type="checkbox"/> 科学的性質 <input checked="" type="checkbox"/> 分類学上の位置	
3. 実効及び発現	
本保蔵所長官署は、平成 5年 10月14日 (保蔵日B) に受理した1種の微生物を受託する。	
4. 保蔵所長の受領	
本保蔵所長官署は、平成 5年 6月30日に保蔵所よりプロトコルに基づき保蔵への受託請求を受領した。	
5. 保蔵所長官署	
保蔵所長官署 工業技術院生命工学工業技術研究所	
名称: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology 〒104 東京都中央区一丁目1番1号 (保蔵番号 4834) 1-3, Higashi 1-chome, Chuo-ku, Tokyo 104, JAPAN	

[図4]

FIG. 4



【国際調査報告】

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP

94/01756

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. C07K7/06, C07K14/155, A61K38/02		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. C07K7/06, A61K37/02		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CAS ONLINE		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, A, 4-507100 (メデイカル・リサーチ・カウンシル), 10. 12月. 1992 (10. 12. 92), 請求の範囲 & WO, A1, 91/1996 & EP, A2, 412766	1-4, 7-8 11-15, 17
X	WO, A1, 93/10816 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM), 10. 6月. 1993 (10. 06. 93), 10頁9行-21行, TABLE3 OF PEPTIDE 116	1-3, 7-8 11-15, 17
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日 若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の 後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と 矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のため に引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規 性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文 献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性 がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日		国際調査報告の発送日
26. 12. 94		31.01.95
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 今 村 玲 英 子 ① 電話 号 03-3581-1101 内線 3444

様式 PCT/ISA/210 (第2ページ) (1992年7月)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP

94/01756

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P. A	& AU, A, 9332339 J. Exp. Med. 第180巻, 第3号, (1994), Isabelle Couillin, et al. [Impaired Cytotoxic T Lymphocyte Recognition Due to Genetic Variations in the Main Immunogenic Region of the Human Immunodeficiency Virus 1 NEF Protein], P. 1129-P. 1134, 特記 Summary, Figure 2	1-7, 11-15 17
A	Journal of Virology, 第67巻, 第2号, (1993), Florence Buseyne, et al. [Gag-Specific Cytotoxic T Lymphocytes from Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Individuals: Gag Epitopes Are Clustered in Three Regions of the p24 _{gag} Protein], p. 694-p. 702, 特記 Abstracts, TABLE 2	1-3, 9-15, 17
A	JP, A, 5-500517 (ボード オブ リージエンツ, ザ ユニバーシティ オブ テキサス システム), 4. 2月, 1993 (04. 02. 93), 請求の範囲 & WO, A1, 91/4045 & US, A, 5128319 & EP, A1, 491861	1-2, 11-15, 17

様式 PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (1992年7月)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP

94/01756

第I編 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見(第1ページの1の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 16 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲 16 は、人の治療による処置方法に関するものであるから、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。

2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II編 発明の単一性が欠如しているときの意見(第1ページの2の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

様式PCT/ISA/210(第1ページの続表(ii))(1992年7月)

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。

なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

